

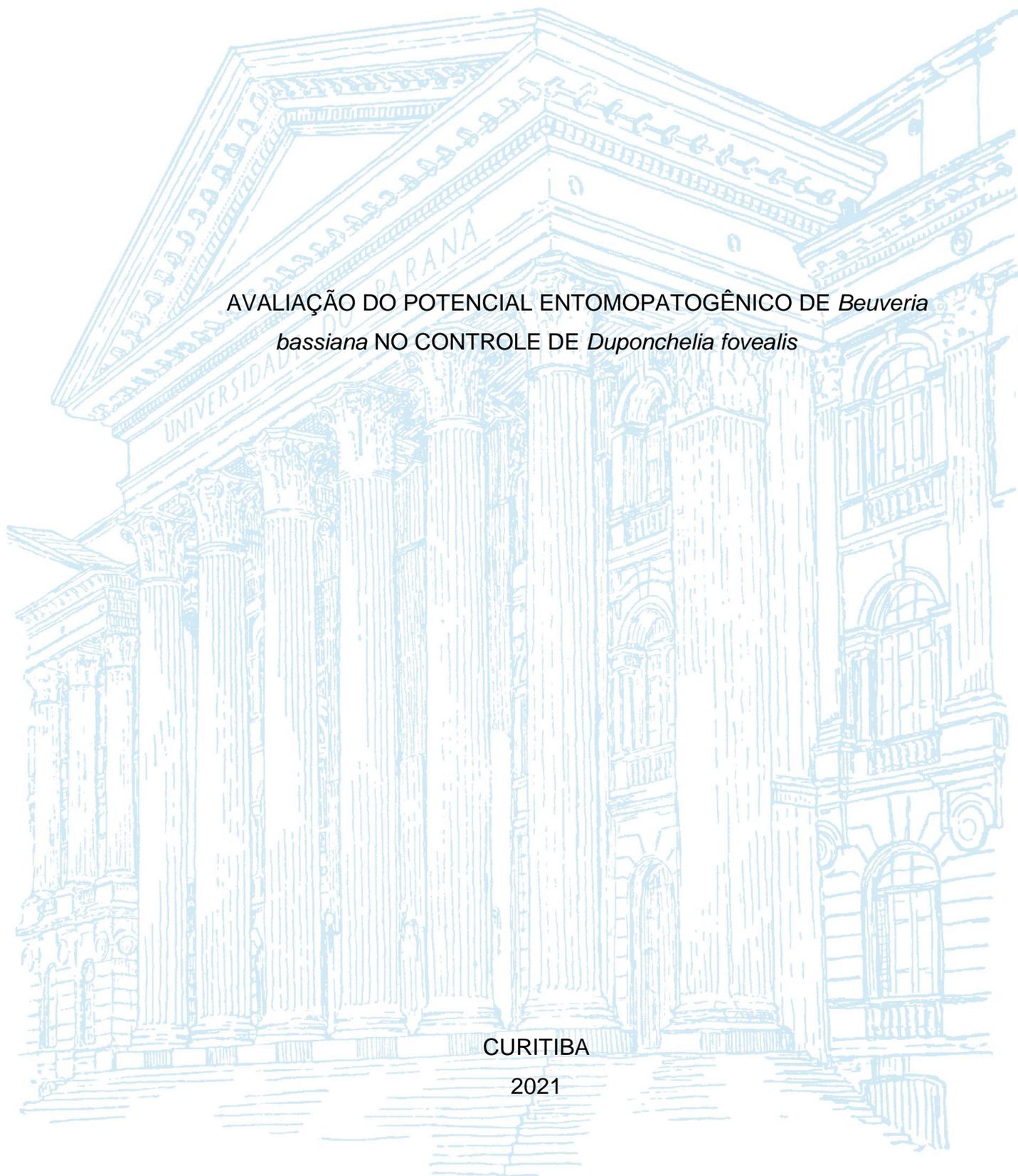
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PAULIANNE BUSCARONS PACHECO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ENTOMOPATOGÊNICO DE *Beuveria*
bassiana NO CONTROLE DE *Duponchelia fovealis*

CURITIBA

2021



PAULIANNE BUSCARONS PACHECO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ENTOMOPATOGÊNICO DE *Beauveria*
bassiana NO CONTROLE DE *Duponchelia fovealis*

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ida Chapaval Pimentel

CURITIBA

2021

TERMO DE APROVAÇÃO

PAULIANNE BUSCARONS PACHECO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE *Beuveria bassiana* NO CONTROLE DE
Duponchelia fovealis

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Profa. Dra. Ida Chapaval Pimentel
Orientadora- Departamento de Patologia Básica
Universidade Federal do Paraná

Profa. Dra. Maria Aparecida Cassilha Zawadneak
Departamento de Patologia Básica
Universidade Federal do Paraná

Prof. Dr. Joatan Machado da Rosa
Departamento de Patologia Básica
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 15 de dezembro de 2021

Mantenha essa página em branco para inclusão do termo/folha de aprovação assinado e digitalizado.

Aos meus pais, Paulo (*in memoriam*) e Roseanne.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me guiar em todos os momentos difíceis da minha vida.

À minha família, pela paciência nos momentos ruins, oportunidades dadas, e apoio incondicional. Em especial à minha mãe, Roseanne Buscarons Pacheco.

À minha orientadora, Ida Chapaval Pimentel, por aceitar o desafio de orientar este projeto em seis meses e pela sua orientação durante a execução.

À mestranda Thaísa Siqueira da Luz, pela paciência e acompanhamento diário no laboratório, me ensinando, instruindo e auxiliando com os experimentos.

Aos colegas do LabMicro e do Laboratório Prof. Ângelo Moreira da Costa Lima, que direta ou indiretamente auxiliaram com a realização deste projeto.

Às melhores amigas e colegas de curso Beatriz Juliane Maioli de Oliveira, Caroline Mika Miashiro e Joice Alessandra Laskoski, por tornarem os anos da graduação mais fáceis e pelo apoio sempre que precisei de um ombro amigo.

RESUMO

A lagarta da coroa, *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae), é uma espécie exótica que se tornou uma importante praga-chave do morangueiro no Brasil, motivando a busca por uma alternativa de controle. Diante desse cenário, a utilização do controle biológico tem sido relatada como uma alternativa promissora no manejo da praga. O entomopatógeno *Beauveria bassiana* é um microrganismo amplamente utilizado no controle biológico de pragas agrícolas, portanto o objetivo deste trabalho foi testar a patogenicidade de cepas de *B. bassiana* contra lagartas de 3^o instar de *D. fovealis*. O teste foi realizado com cinco linhagens, um controle negativo e um controle positivo. Dez lagartas de *D. fovealis* foram transferidas, com auxílio de um pincel, sobre folhas de morango e em seguida pulverizadas com 1mL das suspensões de esporos na concentração de 10⁸ conídios.mL⁻¹. A mortalidade causada pelos isolados após 7 dias variou entre 6% e 33%. As cepas utilizadas neste estudo podem ser mais uma ferramenta no manejo integrado de pragas (MIP), minimizando a contaminação ambiental, o risco de causar resistência, além de contribuir para a produção orgânica do morango no Brasil.

Palavras-chave: Lagarta da coroa. Controle biológico. Teste de patogenicidade. Fungo entomopatogênicos. Morango.

ABSTRACT

The European pepper moth, *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae) is an exotic species that became an important pest of strawberry plants in Brazil, enforcing the need for alternative means to control it. Given this scenario, the use of biological control strategies it's been regarded as a promising way of controlling the pest's population. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* is widely used in biological control of rural pests, and the objective of this study was to test the pathogenicity of *B. bassiana* strains against third instar *D. fovealis* larvae. Five strains were tested, along with one negative control and one positive control. Ten *D. fovealis* larvae were transferred on strawberry leaves with a thin brush, then pulverized with 1mL of conidia suspension at 10^8 conidia.mL⁻¹, and mortality was assessed after 7 days. The mortality caused by the strains after 7 days varied between 6% and 33%. The strains tested in this study can be new tools in integrated pest management (IPM) by minimizing environmental contamination, reducing the risks of pest resistance, and helping with the country's organic production of strawberries.

Keywords: European pepper moth. Biological control. Pathogenicity essay.
Entomopathogenic fungus. Strawberry.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – MORFOLOGIA DO CAULE, FOLHA E FLOR DE <i>Fragaria</i> <i>x ananassa</i> Duchesne.....	14
FIGURA 2 – MECANISMO DE AÇÃO DO PROCESSO DE INFECÇÃO CAUSADO POR FUNGOS ENTOMOATOGÊNICOS.....	16
FIGURA 3 – MACROMORFOLOGIA DE <i>B. bassiana</i> CULTIVADO EM MEIO ÁGAR SABORAUD, INCUBADO A 28°C ± 2°C E 12H FOTOFASE, POR 7 DIAS.....	18
FIGURA 4 – EXTRUSÃO DO FUNGO <i>B. bassiana</i> EM LAGARTAS DE TERCEIRO INSTAR DE <i>D. fovealis</i>	22
FIGURA 5 – MORTALIDADE de <i>D. fovealis</i> NO TRATAMENTO COM INSETICIDA CLORFENAPIR (PIRATE® BASF) APÓS 3 DIAS DE APLICAÇÃO.....	23
FIGURA 6 – CONTAGEM E GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO <i>B. bassiana</i>	23

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – MORTALIDADE MÉDIA (\pm EP) PARA LAGARTAS DE TERCEIRO ÍNSTAR DE *D. fovealis* APÓS 7 DIAS DE APLICAÇÃO COM SUSPENSÕES DE CONÍDIOS (10^8 CONÍDIOS.ML⁻¹) DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS..... 21

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

IPM	- Integrated Pest Management
CABI	- Centre for Agriculture and Bioscience International
FAO	- Food and Agriculture Organization of the United States
SINITOX	- Sistema de Informações Tóxico-Farmacológicas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	JUSTIFICATIVA.....	11
1.2	OBJETIVOS.....	12
1.2.1	Objetivo geral.....	12
1.2.2	Objetivos específicos.....	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	MORANGUEIRO	13
2.2	<i>Duponchelia fovealis</i>	14
2.3	CONTROLE BIOLÓGICO.....	15
2.4	FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS	16
2.4.1	<i>Beauveria bassiana</i>	17
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1	CRIAÇÃO DE <i>Duponchelia fovealis</i>	19
3.2	ISOLADOS FUNGÍCOS.....	19
3.3	PREPARO DA SUSPENSÃO	19
3.4	BIOENSAIO DE PATOGENICIDADE	19
3.5	TESTE DE GERMINAÇÃO	20
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	20
4	RESULTADOS	21
5	DISCUSSÃO	25
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	288
	REFERÊNCIAS	299

1 INTRODUÇÃO

A incidência de pragas é um dos maiores desafios durante o cultivo do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duchesne) no Brasil (ZEIST; RESENDE, 2019). Para reduzir os danos causados por artrópodes, inseticidas são utilizados de modo sistemático, e essa prática faz do morango um dos produtos agrícolas com maior residual de pesticidas (OSHITA; JARDIM, 2012; SILVA et al., 2019).

A mariposa *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae) é uma importante praga de morangueiro em países da Europa, Ásia e Américas (CABI, 2021). Seu registro na América do Sul ocorreu em áreas de morangueiro no Brasil com dispersão para importantes regiões produtoras do país (MENEZES et al., 2019). O inseto ataca a coroa, folhas, flores e frutos do morangueiro, podendo até ocasionar a morte de plantas infestadas. (ZAWADNEAK; GONÇALVES; BISCHOFF, 2014; ZAWADNEAK et al., 2016).

O uso de inseticidas sintéticos pode causar contaminação ambiental, humana e seleção de indivíduos resistentes (ZAKI et al., 2020). Neste cenário, estratégias mais sustentáveis que implementem o Manejo Integrado de Pragas (MIP) na cultura do morangueiro devem ser exploradas, sendo o controle biológico uma alternativa a ser priorizada.

Microorganismos estão sendo amplamente estudados quanto a suas capacidades bioinseticidas, em resposta a necessidade de reduzir o uso de pesticidas químicos. O fungo entomopatogênico *B. bassiana* é uma espécie que apresenta importante papel ecológico como regulador natural de populações de pragas de insetos (ISLAM et al., 2021) e cepas testadas anteriormente já demonstraram forte ação contra lagartas de *D. fovealis* em laboratório e casa de vegetação (AMATUZZI et al., 2018a; POITEVIN et al., 2018; BAJA et al., 2020).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial entomopatogênico de cepas de *B. bassiana* contra lagartas de *D. fovealis*, observando a mortalidade causada pelo fungo entomopatogênico.

1.1 JUSTIFICATIVA

A lagarta-da-coroa *D. fovealis* causa sérios danos e prejuízos em morangueiros nas regiões produtoras brasileiras, porém ainda não existem produtos

químicos e biológicos registrados para esta praga no país. Portanto o presente trabalho se propôs a testar linhagens de *B. bassiana* como alternativa de controle à lagarta de *D. fovealis*.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 *Objetivo geral*

Avaliar o potencial de linhagens de *Beauveria bassiana* no controle de lagartas de *Duponchelia fovealis*.

1.2.2 *Objetivo específico*

Avaliar a patogenicidade de cinco linhagens de *Beauveria bassiana* contra lagartas de terceiro instar de *Duponchelia fovealis* em condições de laboratório.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MORANGUEIRO

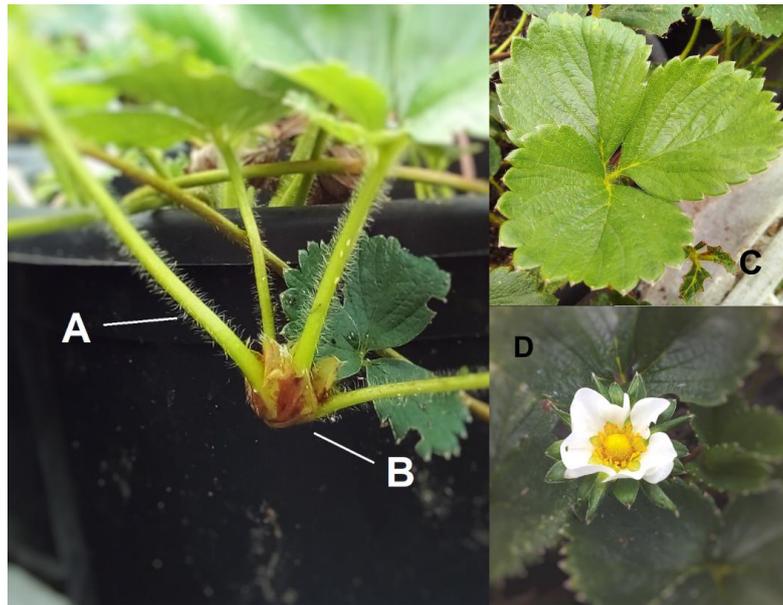
O morangueiro pertence à família Rosaceae, subfamília Rosoideae. O gênero *Fragaria* L. é composto por mais de 20 espécies (FOLTA; DAVIS, 2007; STAUDT 1989; STAUDT 2008), incluindo a espécie híbrida *Fragaria x ananassa* Duchesne, resultante do cruzamento entre duas espécies nativas das américas, *Fragaria chiloensis* e *Fragaria virginiana*, que ocorreu durante o século XVIII (DARROW, 1966).

A planta é herbácea, de rizoma estoloso e apresenta caule curto e com desenvolvimento em espiral, denominado de coroa. Da coroa podem se formar as folhas, as flores e novos estolos; estes que por sua vez realizam crescimento vegetativo ao formar novas coroas. Suas folhas têm pecíolo longo e são trifoliadas (FIGURA 1). As flores têm coloração branca, arranjo floral é pentâmero e podem ser unissexuais ou hermafroditas (DARROW, 1966).

Cerca de 8,5 milhões de toneladas de morango foram produzidas mundialmente em 2019, e o Brasil foi o 11º maior produtor, com produção estimada em 165.440 toneladas, de acordo com a organização Food and Agriculture Organization of the United States (FAO) (2021). O estado de Minas Gerais é o maior produtor brasileiro, responsável por mais de 50% da produção nacional, seguido pelos estados do Rio Grande do Sul e Paraná. Estima-se que o estado paranaense é o terceiro maior produtor, e que apresenta produtividade de 30 toneladas por hectare (ANTUNES; BONOW; REISSNER JUNIOR, 2020).

Dentre as pragas que afetam a produção de morangos no Brasil pode-se citar as espécies *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), *Phytonemus pallidus* Banks (Acari: Tarsonemidae); *Chaetosiphon fragaefolli* Cockerel (Hemiptera: Aphididae); *Spodoptera eridania* Cramer (Lepidoptera: Noctuidae); *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae), *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae); *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae), *Lobiopa insularis* Castelnau (Coleoptera: Nitidulidae), *Naupactus tremolerasi* Hustache (Coleoptera: Curculionidae) (BERNARDI et al., 2015).

FIGURA 1 – MORFOLOGIA DO CAULE, FOLHA E FLOR DE *Fragaria x ananassa* Duchesne.



FONTE: O autor (2021).

LEGENDA: Pecíolo foliar (A); estolo (B); folha (C); flor (D).

2.2 *Duponchelia fovealis*

A mariposa *D. fovealis* (Lepdoptera: Crambide) é originária das Ilhas do Mediterrâneo e Canárias, entretanto apresenta distribuição global com registros em diversos países do continente europeu, além das Américas, Ásia e África (STOCKS; HODGES, 2012; CABI, 2021). No Brasil a espécie foi relatada pela primeira vez em 2010 (ZAWADNEAK et al., 2016).

O ciclo de vida de ovo até a fase adulta de *D. fovealis* pode durar entre 6 e 8 semanas, dependendo de fatores como dieta e temperatura. A fase larval apresenta cinco instares e tem duração entre 3 a 4 semanas, seguida pela fase de pupa (entre 2 e 3 semanas) e eventual emergência dos adultos (STOCKS; HODGES, 2012; ZAWADNEAK et al., 2016). A morfologia dos adultos é relatada como:

Os adultos são mariposas que medem em torno de 19 mm de envergadura por 10 mm de comprimento. Apresentam asas de coloração marrom, com o centro mais escuro, e com duas finas linhas transversais amarelas e paralelas entre si. A linha mais perto do ápice da asa apresenta um desenho em forma de "U" na região central. Antenas são longas, filiformes, voltadas para trás (ZAWADNEAK; GONÇALVES; BISCHOFF, 2014, p. 9)

Segundo Zawadneak, Gonçalves e Bischoff (2014), cerca de 73 espécies de plantas foram registradas na literatura como hospedeiras da praga, em sua maioria espécies ornamentais. No Brasil, a lagarta é praga do morangueiro. As perfurações feitas pelas lagartas na coroa da planta comprometem a circulação de nutrientes e favorecem a ação de fitopatógenos (ZAWADNEAK et al., 2016). Além disso, a redução da área foliar causada pela alimentação da lagarta-da-coroa prejudica a fotossíntese e a qualidade dos morangos (ZAWADNEAK et al., 2016). As plantas atacadas ficam debilitadas e com baixa produtividade, e os danos podem ocasionar sua morte (GUDA et al., 1988).

2.3 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico é uma das estratégias abrangidas pelo Manejo Integrado de Pragas (MIP), que visa a aplicação de múltiplas técnicas para controle de pragas, permitindo a redução do uso de pesticidas químicos, segundo a organização Food and Agriculture Organization of the United States (FAO) (2021). Esta estratégia pode ser definida como um processo no qual um organismo (dentro patógenos, parasitoides ou predadores) é empregado para controlar a população de uma espécie que cause danos econômicos, principalmente em sistemas agrícolas (HEIMPEL; MILLS, 2017).

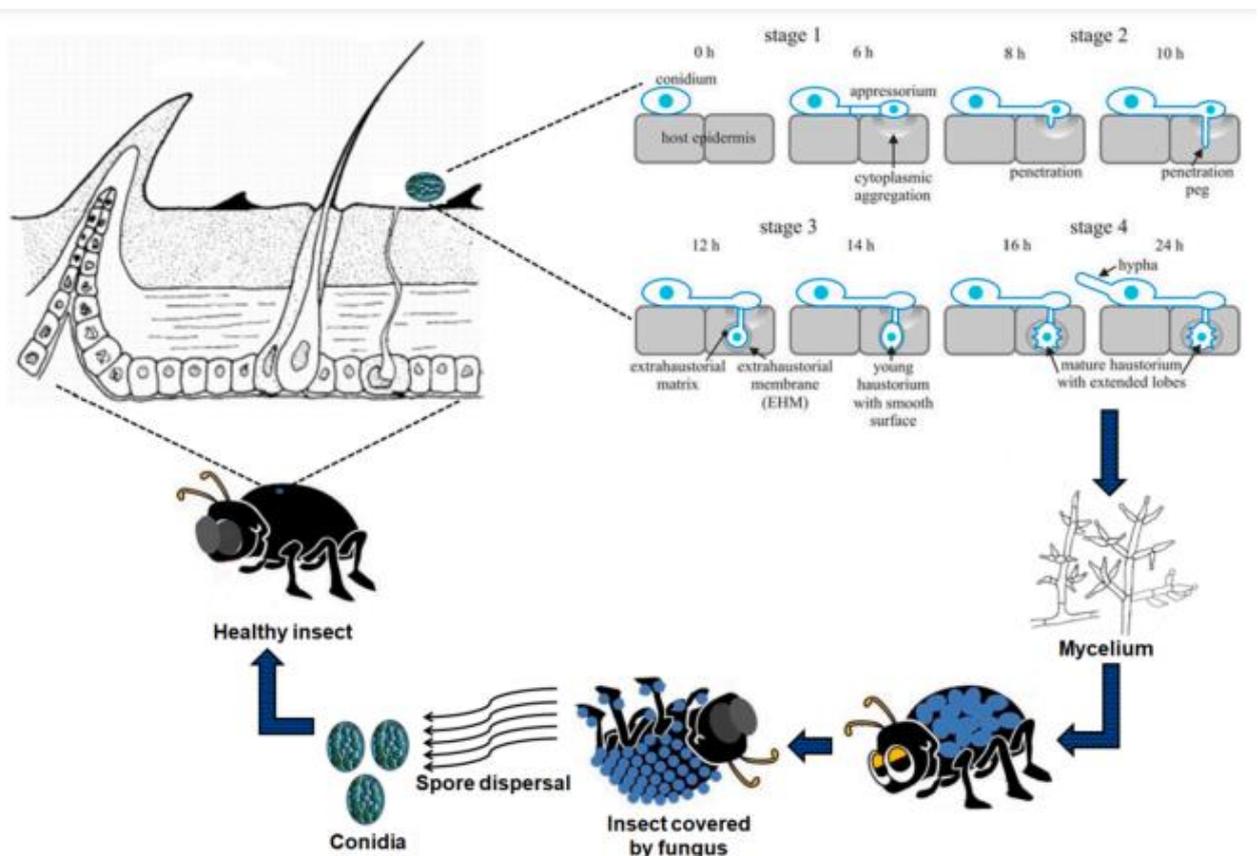
A prática do controle biológico ainda pode ser classificada em diferentes tipos, dependendo da metodologia utilizada: o controle biológico clássico refere-se à importação e uso de inimigos naturais para controle de pragas exóticas; o controle aplicado é aquele em que grandes quantidades do agente controlador são liberadas, a fim de proporcionar uma rápida diminuição populacional da praga; por fim o controle natural que visa a manipulação do ambiente e outras estratégias de manejo para permitir a conservação da população dos agentes controladores (HEIMPEL; MILLS, 2017).

Predadores, parasitoides e patógenos são exemplos de agentes controladores utilizados para controle biológico em casas de vegetação e plantações. Dentre estes, os fungos entomopatogênicos estão ganhando destaque, especialmente os gêneros *Beauveria* e *Metarhizium*, pela sua ampla distribuição global e facilidade de produção em massa (MASCARIN & JARONSKI, 2016).

2.4 FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS

Os fungos entomopatogênicos são aqueles que tem capacidade de colonizar e matar artrópodes. A adesão dos conídios a cutícula externa do inseto é a primeira etapa deste processo (FIGURA 2) e ele ocorre através de proteínas adesivas presentes na superfície dos conídios (WANG; LEGER, 2007). A germinação dos esporos é afetada pelo pH, temperatura, oxigênio, nutrientes disponíveis e também pelas toxinas secretadas pelo hospedeiro (ISLAM et al., 2021).

FIGURA 2 – MECANISMO DE AÇÃO DO PROCESSO DE INFECÇÃO CAUSADO POR FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS.



Fonte: ISLAM et al (2021).

Posteriormente os tubos germinativos formam os apressórios, que são formados quando a hifa interrompe seu crescimento e sua extremidade se dilata, gerando uma estrutura globosa que auxilia na penetração cuticular (HATZIPAPAS et al., 2002). A ação enzimática para degradação da cutícula é essencial no processo de infecção, e estudos sugerem que as primeiras enzimas produzidas são as lipases,

seguidas de proteases e quitinases (SÁNCHEZ-PEREZ et al., 2014). Após a penetração, o fungo cresce na hemocele do inseto (SINHA; CHOUDARY; KUMARY, 2016) e realiza absorção de nutrientes para permitir seu crescimento, tanto vegetativo quanto reprodutivo (ISLAM et al., 2021).

Beauveria bassiana, *Metarizium anisoplie*, *Isaria fumosorosea* são os fungos entomopatogênicos mais usados para realizar controle de pragas artrópodes. Em 2007, Faria e Wright compilaram micopesticidas produzidos mundialmente e observaram que produtos à base de *B. bassiana* e *M. anisoplie* somaram 67,8% dos 171 micopesticidas apresentados, seguidos por *Isaria fumosorosea* (5,8%).

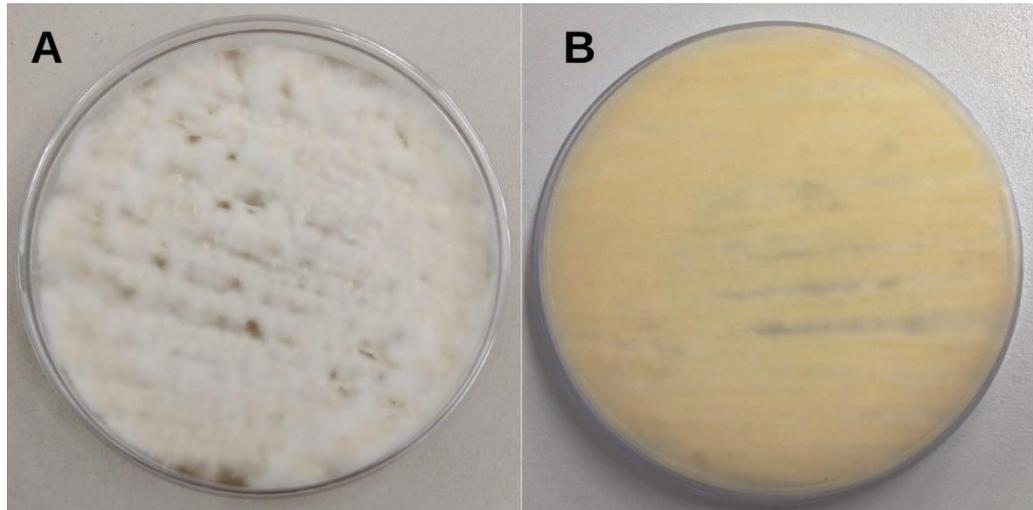
2.4.1 *Beauveria bassiana*

A espécie foi descoberta pelo italiano Agostino de Bassi di Lodi como causadora da doença muscardina branca em bicho-da-seda, *Bombyx borii*. Posteriormente foi estudada e identificada por Giuseppe Gabriel Balsamo-Crivelli, Jean Beauverie e Jean Paul Vuillemin, este último que deu origem ao gênero *Beauveria* e atribuiu o fungo *B. bassiana* como sua espécie-tipo (ZIMMERMAN, 2007). Atualmente o gênero pertence a ordem Hypocreales, família Cordycipitaceae (REHNER; BUCKLEY, 2005; SUNG et al., 2007). Rehner e Buckley (2005) apresentaram ainda evidências de que a espécie seja na verdade um complexo de espécies crípticas, através de análises com as sequências nucleares ITS e EF1 α .

O fungo apresenta distribuição cosmopolita, sendo isolado de artrópodes, do solo e também é encontrado como fungo endofítico (MCKINNON et al., 2017). As colônias têm coloração branca a amarelada ou rosada, aparência aveludada. O reverso é incolor ou de coloração amarelada, aspecto liso (FIGURA 3). O micélio é hialino e septado; conídios são hialinos e de formato globoso ou elipsoide (ZIMMERMAN, 2007).

Como agente controlador, *B. bassiana* já foi testada contra espécies das ordens Hemiptera (LORENCETTI et al., 2018; MWEKE et al., 2018; SHRESTHA; ENKEGAARD; STEENBERG, 2015), Lepidoptera (AMATUZZI et al., 2018a, 2018b; BAJA et al., 2020), Coleoptera (ERLER; ATES, 2015; KHUN et al., 2020), Thysanoptera (GAO, 2012), Diptera (SVEDESE et al., 2012; MARÍN-CRUZ et al., 2017; SILVA et al., 2018).

FIGURA 3 – MACROMORFOLOGIA DE *B. bassiana* CULTIVADO EM MEIO ÁGAR SABORAUD, INCUBADO A $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ E 12H FOTOFASE, POR 7 DIAS



FONTE: O autor (2021).

LEGENDA: Macromorfologia do verso, branca e aveludada (A) e reverso, lisa e incolor (B).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CRIAÇÃO DE *Duponchelia fovealis*

As lagartas de terceiro instar utilizadas no bioensaio foram provenientes da criação do Laboratório de Entomologia Prof. Ângelo Moreira da Costa Lima, localizado no Departamento de Patologia Básica, Setor de Ciências Biológicas. A criação foi mantida em sala climatizada (temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $70\% \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas) e as lagartas foram alimentadas com dieta artificial específica para *D. fovealis* (ZAWADNEAK et al., 2017).

3.2 LINHAGENS FÚNGICAS

As linhagens de *Beauveria bassiana* utilizadas foram CMRP 4474, 4475, 4476, 4477 e 4478. Elas estão depositadas na Coleção Microbiana da Rede Paranaense - TaxOline do Departamento de Patologia Básica

3.3 PREPARO DO INÓCULO

As cepas utilizadas foram cultivadas em placas de Petri contendo meio Ágar Semente de Níger e incubadas em câmara B.O.D a $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12 horas por 14 dias para produção de conídios (ITO; PIMENTEL; POITEVIN, 2019). Após esse período a superfície de crescimento de cada fungo foi raspada com auxílio de uma espátula metálica autoclavada e os conídios foram transferidos para tubos falcon contendo 20 mL de solução salina (NaCl 0,85% e Tween®80 0,01%). As suspensões foram então agitadas em vórtex a 120 rpm, e em seguida, filtradas em novos tubos falcon. As concentrações de cada suspensão foram estimadas com o auxílio da câmara de Neubauer (400x).

3.4 BIOENSAIO DE PATOGENICIDADE

Folhas de morango foram coletadas e desinfetadas (ARAÚJO et al., 2002), tiveram seu pecíolo envolto em algodão e mergulhado em vidros (15 mL) com água para hidratação dos folíolos. Em cada folha foram adicionadas 10 lagartas de 3^o

instar de *D. fovealis* com auxílio de pincel ponta fina (POITEVIN et al., 2018) e em seguida as lagartas foram pulverizadas com 1 mL de suspensão de conídios na concentração de 10^8 conídios.mL⁻¹. Após a pulverização as folhas foram colocadas em recipientes plásticos de 500 mL e mantidas em condições controladas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas). Como controle negativo foi utilizada solução salina (NaCl 0,85% e Tween®80 0,01%) e como controle positivo foi utilizado o inseticida Clorfenapir (Pirate®, Basf) conforme recomendado pelo fabricante para cultura de morango. Foram testadas as linhagens CMRP 4474, 4475, 4476, 4477 e 4478, e para cada uma foram realizadas duas repetições no tempo com 5 réplicas, totalizando 100 lagartas de terceiro instar para cada tratamento.

A avaliação de mortalidade foi realizada após 7 dias e foram consideradas mortas as lagartas que não responderam aos estímulos realizados com toque de pincel ponta fina. Os insetos mortos foram transferidos para placas de Petri contendo papel filtro umedecido para extrusão do fungo e confirmação do agente causal.

3.5 TESTE DE GERMINAÇÃO

Para avaliar a viabilidade dos conídios presentes nas suspensões foi realizado o teste de germinação. Os conídios das linhagens fúngicas foram ajustados na concentração 10^6 conídios.mL⁻¹ (ROJAS, 2015). Posteriormente foi inoculado 100 µl de suspensão de cada cepa em placas de Petri contendo meio BDA e espalhado com auxílio de uma alça de Drigalski. As placas foram mantidas em condições controladas ($28 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12h) por 18h. A percentagem de germinação foi avaliada em microscópio óptico (400x) com a contagem de 200 esporos e estes foram considerados viáveis quando o tubo germinativo foi maior que o seu diâmetro (OLIVEIRA et al., 2015).

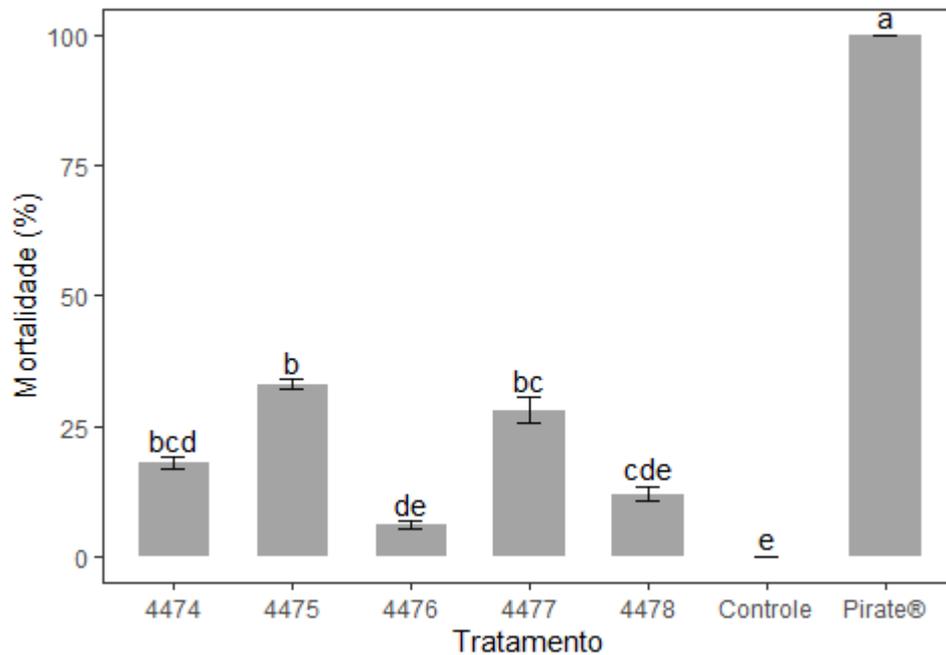
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade. Quando encontrado diferença significativa entre os diferentes tratamentos, o teste de Tukey foi realizado para comparação das médias. As análises foram realizadas com o software estatístico R versão 4.1.2.

4 RESULTADOS

Todas as cepas de *B. bassiana* causaram mortalidade nas lagartas de terceiro instar de *D. fovealis* ($F_{2,254} = 73.74$, $p < 0,05\%$), com extrusão confirmada (FIGURA 4). No GRÁFICO 1 pode-se observar a percentagem de mortalidade média de cada linhagem: os tratamentos CMRP 4475 e 4477 obtiveram as mortalidades mais altas, 33% e 28%, respectivamente; porém estatisticamente não foram diferentes entre si (Tukey, $p < 0,05$).

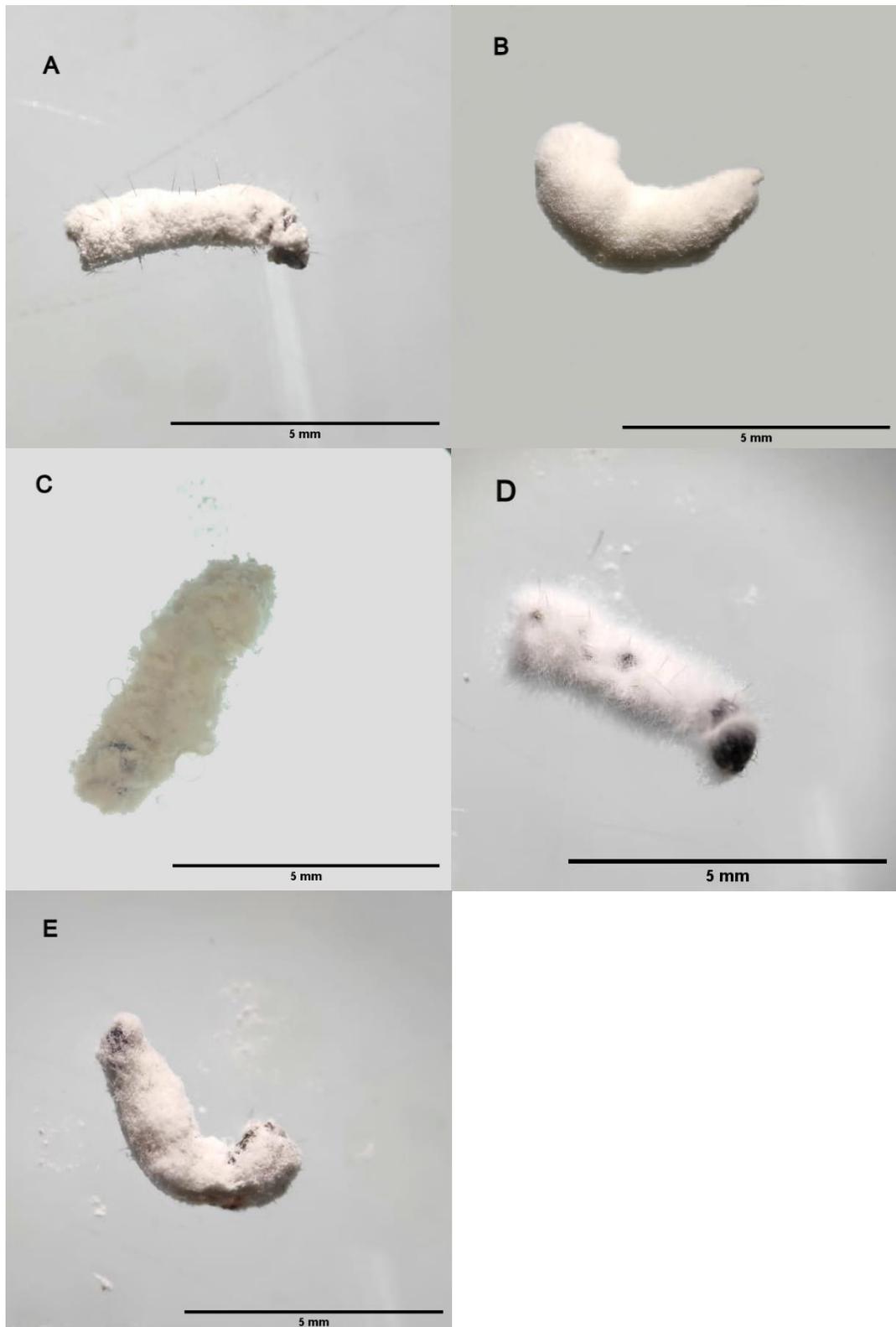
GRÁFICO 1 – MORTALIDADE MÉDIA (\pm EP) PARA LAGARTAS DE TERCEIRO ÍNSTAR DE *D. fovealis* APÓS 7 DIAS DE APLICAÇÃO COM SUSPENSÕES DE CONÍDIOS (10^8 CONÍDIOS.ML⁻¹) DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS.



FONTE: O autor (2021).

LEGENDA: Barras com a mesma letra não diferem significativamente de acordo com o teste Tukey ($p < 0,05$).

FIGURA 4 – EXTRUSÃO DO FUNGO *B. bassiana* EM LAGARTAS DE TERCEIRO INSTAR DE *D. fovealis*.



FONTE: O autor (2021).

LEGENDA: Extrusão confirmada das linhagens CMRP 4474 (A); 4475 (B); 4476 (C); 4477 (D) e 4478 (E), respectivamente, em lagartas de terceiro instar de *D. fovealis*, após 5 dias de incubação ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12h).

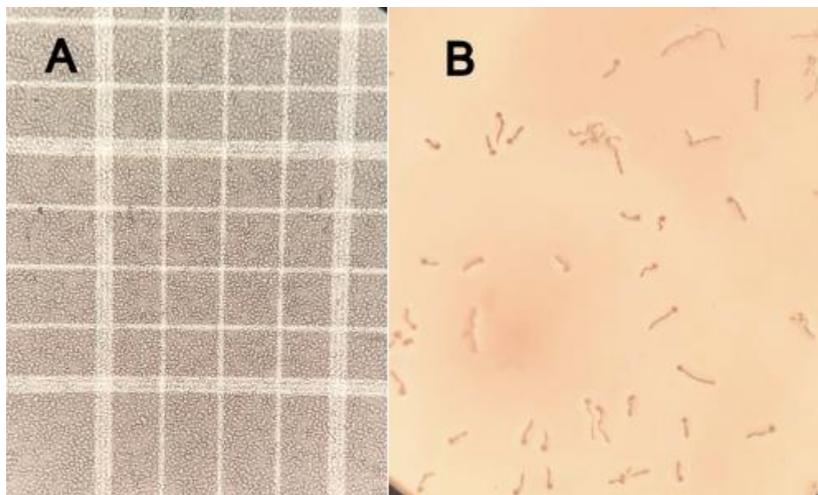
As cepas CMRP 4476 e 4478 não apresentaram patogenicidade significativa em relação ao controle negativo, com taxas de mortalidade de 6% e 12%, respectivamente. O tratamento realizado com o pesticida Clorfenapir (Pirate® Basf) obteve 100% de mortalidade (GRÁFICO 1) após 3 dias de sua aplicação (FIGURA 5). Todos os fungos utilizados no presente estudo apresentaram germinação acima de 95%, e as concentrações das suspensões foram estimadas em 10^8 conídios mL⁻¹ (FIGURA 6).

FIGURA 5 – MORTALIDADE de *D. fovealis* NO TRATAMENTO COM INSETICIDA CLORFENAPIR (PIRATE® BASF) APÓS 3 DIAS DE APLICAÇÃO.



FONTE: O autor (2021).

FIGURA 6 – CONTAGEM E GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *B. bassiana*.



FONTE: O autor (2021).

LEGENDA: Estimativa de concentração das suspensões em câmara de Neubauer (A) e contagem da germinação após incubação em meio BDA por 18 horas ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas) (B), em microscópico óptico com aumento de 400x.

5 DISCUSSÃO

Estudos que avaliam a patogenicidade de fungos entomopatogênicos são importantes para auxiliar na seleção de linhagens com potencial para controlar populações de pragas agrícolas. A avaliação da patogenicidade das linhagens de *B. bassiana* sobre lagartas de *D. fovealis*, nesse estudo, apresentou taxas de mortalidade inferior a 40% para lagartas de terceiro instar. Estudos realizados anteriormente obtiveram resultados semelhantes ao testar isolados de *B. bassiana* para *D. fovealis* (GUILHERME, 2016; BREDA, 2018). Entretanto Amatuzzi e colaboradores (2018a), ao avaliarem fungos de solo contra a lagarta-da-coroa, evidenciaram fungos entomopatogênicos com alto potencial para o seu controle, incluindo uma cepa de *B. bassiana* (Bea111), que apresentou mais de 80% de mortalidade na concentração de 10^9 conídios mL⁻¹ em condições de laboratório e acima de 50% em casa de vegetação na concentração de 10^6 conídios mL⁻¹.

O fungo entomopatogênico *B. bassiana* é largamente utilizado no controle de pragas agrícolas em condições laboratoriais e de campo (ISLAM et al., 2021). Todavia, estudos devem ser realizados para possibilitar o emprego desse entomopatógeno por meio de formulações que preservem seus esporos afim de viabilizar o uso deste microrganismo nas regiões agrícolas, (KAISER et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2018). Apesar de promissor, ainda não existem bioinseticidas formulados a partir de fungos entomopatogênicos registrados para controle de *D. fovealis* na cultura de morangueiro no Brasil e em outros países (ZAWADNEAK et al., 2016).

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) pode ser realizado através da associação de métodos de controle (PIROVANI, 2016). Em seu estudo, Pirovani (2016) testou estratégias de manejo que visaram controlar diferentes estágios de vida de *D. fovealis*, e apresentou métodos com potencial para controlar ovos, lagartas, pré-pupas e adultos da espécie. A cepa CMRP 4475 testada no presente estudo têm potencial para fazer parte de um plano de manejo contra a lagarta-da-coroa, em associação com diversas estratégias, incluindo o uso de outros agentes biológicos com diferentes mecanismos de ação (ARAUJO et al., 2020).

O desempenho de linhagens de *B. bassiana* encontrado nesse estudo pode estar relacionado à seletividade de certas cepas para hospedeiros específicos como alvos. A patogenicidade dos fungos entomopatogênicos é variável entre as espécies,

entre os isolados dentro da mesma espécie, entre as espécies de insetos e entre as fases de desenvolvimento do inseto no qual o fungo é aplicado (RODRIGUES, 2019).

As lagartas de terceiro instar de *D. fovealis* apresentaram pouca suscetibilidade aos fungos testados visto que, no geral, a mortalidade confirmada na concentração testada foi no máximo de 33%. Nesse sentido, Thomazoni et al. (2014), avaliou a suscetibilidade de fungos entomopatogênicos na concentração de 10^9 contra lagartas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) e também constatou baixa patogenicidade entre os isolados avaliados de uma mesma espécie de fungo. Isso demonstra que a realização de bioensaios de seleção de isolados para a obtenção daqueles mais eficientes são importantes.

Além disso, Baja e colaboradores (2020), avaliaram que lagartas de primeiro instar de *D. fovealis* apresentam maior suscetibilidade a um isolado de *B. bassiana* (Bea 111). A alta taxa de mortalidade apresentada neste instar está relacionada com a fraqueza do sistema imunológico larval ao entomopatógeno (INGLIS et al., 2001). Baja et al. (2020) também constatou diminuição na mortalidade de lagartas de *D. fovealis* à medida que acontece o desenvolvimento do sistema imunológico do inseto. A resposta imune dos insetos é mais eficaz em instares larvais mais avançados (SRYGLEY, 2012). A virulência de entomopatógenos a lagartas de *D. fovealis* dependem da cepa e a concentração utilizada, bem como o instar de *D. fovealis* (Baja et al., 2020). Desta maneira, as cepas de *B. bassiana* utilizados nesse trabalho, em hipótese, podem realizar um controle mais efetivo nos primeiros estágios de desenvolvimento da praga. Além do mais, uma vez que a extrusão ocorre, novos conídios podem ser liberados para causar infecções em novas lagartas (XIONG et al., 2013).

O tegumento dos insetos é constituído de nanofibras de quitina cristalina associado a uma matriz de proteínas, polifenóis, água e lipídios, que podem variar entre as espécies e podem ser degradados por proteases e quitinases. Desta forma, a cutícula é uma barreira físico-química altamente eficiente contra a penetração de muitos agentes entomopatogênicos (VICENT; WEGST, 2004). A patogenicidade e a virulência variante entre as espécies de fungos ou linhagem na mesma espécie sobre o inseto alvo podem ser influenciadas pela variação da atividade enzimática existente dos isolados, como lipases, quitinases e proteases, que é fundamental no processo de infecção para a penetração na cutícula do inseto e que é expressa a partir da germinação dos conídios (BOUCIAS et al., 2000; NUNES et al., 2010). Sendo assim,

isso pode ajudar a explicar a seletividade observada das cepas de *B. bassiana* deste estudo para as lagartas de *D. fovealis*.

Das cinco linhagens de *B. bassiana* testadas a CMRP 4475 apresentou maior a maior mortalidade contra lagartas de terceiro instar de *D. fovealis*. Esta linhagem tem potencial para controle biológico, afim de controlar populações da lagarta-da-coroa em cultura de morango.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os sérios danos causados pela lagarta de *D. fovealis* em morangueiros cultivados no Brasil e a falta de inseticidas químicos e biológicos registrados contra a praga, o presente estudo se propôs a testar linhagens de *B. bassiana* contra *D. fovealis*.

Os resultados obtidos demonstraram que a cepa CMRP 4475 apresentou a maior mortalidade média, de 33% em condições de laboratório. Para possibilitar seu uso como agente controlador da lagarta-da-coroa, novos estudos que permitam melhorar seu desempenho, testar sua compatibilidade com outros métodos de controle e sua patogenicidade em diferentes estágios de vida da praga são recomendados.

Este trabalho também demonstrou que a patogenicidade fúngica pode apresentar variações dentro de uma mesma espécie, reforçando a necessidade de conduzir experimentos que auxiliem na seleção de espécies e linhagens promissoras para o controle biológico.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. et al. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **J. econ. Entomol**, v. 18, n. 2, p. 265-267, 1925.
- ALVES, S. B.; MOINO JR, A.; ALMEIDA, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. **Controle microbiano de insetos**, v. 2, n. 2, p. 1, 1998.
- AMATUZZI, R. F. et al. Susceptibility of *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae) to soil-borne entomopathogenic fungi. **Insects**, v. 9, n. 2, 2018a.
- AMATUZZI, R. F. et al. Potential of endophytic fungi as biocontrol agents of *Duponchelia fovealis* (Zeller) (Lepidoptera:Crambidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 3, p. 429–435, 2018b.
- ANTUNES, L. E. C.; BONOW, S.; REISSER JUNIOR, C. Morango: crescimento constante em área e produção. **Embrapa Clima Temperado-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2020.
- ARAUJO, E. S. et al. Combining biocontrol agents with different mechanisms of action to control *Duponchelia fovealis*, an invasive pest in South America. **Crop Protection**, v. 134, p. 105184, 2020.
- BAJA, F. et al. Infection of *Beauveria bassiana* and *Cordyceps javanica* on different immature stages of *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae). **Crop Protection**, v. 138, n. June, 2020.
- BERNARDI, D. et al. Guia para a identificação e monitoramento de pragas e seus inimigos naturais em morangueiro. **Embrapa Uva e Vinho-Livro científico (ALICE)**, 2015.
- BREDA, M. L. G. Diversidade de fungos endofíticos em milho e seu emprego no controle biológico de *Duponchelia fovealis*. 79 f. Monografia de graduação (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.
- BOUCIAS, D. G. et al. Genotypic and phenotypic properties of the invertebrate mycopathogen *Nomuraea rileyi*. **Biol Control**, v. 19, p. 124-138, 2000.
- CENTRE FOR AGRICULTURE AND BIOSCIENCE INTERNATIONAL (CABI). Disponível em: <https://www.cabi.org/jsc/datasheet/20168>. Acesso em: 11 nov. 2021.
- DARROW, G. M. et al. The Strawberry. **The Strawberry**, 1966.
- ERLER, F.; ATES, A. O. Potential of two entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Coleoptera: Scarabaeidae), as biological control agents against the June beetle. **Journal of Insect Science**, v. 15, n. 1, p. 44, 2015.

FOLTA, K. M.; DAVIS, T. M. Strawberry genes and genomics. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 25, n. 5, p. 399-415, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED STATES (FAO). Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 23 nov. 2021.

GAO, Yulin et al. Potential of a strain of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Cordycipitaceae) as a biological control agent against western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 22, n. 4, p. 491-495, 2012.

GUDA, C. D. et al. Symptoms of damage on *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. caused by the pyralid *Duponchelia fovealis* (Zeller). **Annali dell'Istituto Sperimentale per la Floricoltura**, v. 19, n. 1, p. 3-11, 1988.

GUILHERME, N. da S. M. Isolamento e identificação de fungos endofíticos de milho (*Zea mays* L.) e controle de *Duponchelia fovealis* por *Beauveria bassiana*. 63 f. Monografia de graduação (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

HATZIPAPAS, P. et al. Spore germination and appressorium formation in the entomopathogenic *Alternaria alternata*. **Mycological Research**, v. 106, n. 11, p. 1349-1359, 2002.

HEIMPEL, G.; MILLS, N. Definitions and Interactions. In **Biological Control: Ecology and Applications**, Cambridge: Cambridge University Press, p. 1-18, 2017.

ISLAM, W. et al. Insect-fungal-interactions: A detailed review on entomopathogenic fungi pathogenicity to combat insect pests. **Microbial Pathogenesis**, v. 159, n. March, p. 105122, 2021.

INGLIS, G.D., GOETTEL, M.S., BUTT, T.M., STRASSER H. Use of Hyphomycetous fungi for managing insect pests. In: Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N. (Eds.), **Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential**. CABI Publishing, pp. 23–70. 2001.

ITO, F. A. D.; PIMENTEL, I. C.; POINTEVIN, C. G. Niger seed agar as an inductor of sporulation of filamentous fungi with potential in biological control of agricultural diseases and pests. **International Journal of Microbiology Research**, v. 11, n. 3, p. 1509–1513, 2019.

KAISER, D.; BACHER, S.; MENÉ-SAFFRANÉ, L.; GRABENWEGER, G. Efficiency of natural substances to protect *Beauveria bassiana* conidia from UV radiation. **Pest Management Science**, 2018.

KHUN, K. K. et al. Response of the macadamia seed weevil *Kuschelorhynchus macadamiae* (Coleoptera: Curculionidae) to *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in laboratory bioassays. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 174, p. 107437, 2020.

- LORENCETTI, G. A. T. et al. Eficiência de *Beauveria bassiana* Vuill. e *Isaria sp.* para o controle de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae). **Ciência Florestal**, v. 28, p. 403-411, 2018.
- MARÍN-CRUZ, V. H. et al. Insectistatic and insecticide activity of *Beauveria bassiana* in *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). **Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente**, v. 23, n. 3, p. 329-340, 2017.
- MASCARIN, G. M.; JARONSKI, S. T. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 11, p. 1-26, 2016.
- MCKINNON, A C. et al. *Beauveria bassiana* as an endophyte: a critical review on associated methodology and biocontrol potential. **BioControl**, v. 62, n. 1, p. 1-17, 2017.
- MENEZES, C. W. G. de et al. First Record of *Duponchelia fovealis* (Crambidae) as a Pest of Commercial Crops of Strawberry in Campo Das Vertentes, Minas Gerais, Brazil. **The Journal of the Lepidopterists' Society**, v. 73, n. 2, p. 131-134, 2019.
- MWEKE, A. et al. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and *Isaria sp.* for the management of *Aphis craccivora* (Hemiptera: Aphididae). **Journal of Economic Entomology**, v. 111, n. 4, p. 1587-1594, 2018.
- NUNES, A. R. F. et al. Production of cuticle-degrading proteases by *Nomuraea rileyi* and its virulence against *Anticarsia gemmatalis*. **Ciência Rural**, v. 40, p. 1853-1859, 2010.
- OLIVEIRA, D. G. P. et al. A protocol for determination of conidial viability of the fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from commercial products. **Journal of Microbiological Methods**, v. 119, p. 44–52, 2015.
- OLIVEIRA, D. G. P. DE et al. Increased tolerance of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* conidia to high temperature provided by oil-based formulations. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 151, n. February 2017, p. 151–157, 2018.
- OSHITA, D.; JARDIM, I. C. S. F. Strawberry: a food, environmental and health concern, monitored by modern liquid chromatography. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 1, p. 46–70, 2012.
- PANICO, A. M. et al. Antioxidant activity and phenolic content of strawberry genotypes from *Fragaria x ananassa*. **Pharmaceutical Biology**, v. 47, n. 3, p. 203-208, 2009.
- PIROVANI, V. D. Métodos de manejo para *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae) na cultura do morangueiro. 113 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2016.
- POITEVIN, C. G. et al. Fungi isolated from insects in strawberry crops act as potential biological control agents of *Duponchelia fovealis* (Lepidoptera: Crambidae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 53, n. 3, p. 323–331, 2018.

REHNER, S. A.; BUCKLEY, E. A. *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. **Mycologia**, v. 97, n. 1, p. 84-98, 2005.

ROBERTSON, J.L. et al. **Bioassays with Arthropods**. v. 05, p. 1997–1999, 2008.

RODRIGUES, P. R. Potencial de fungos entomopatogênicos comerciais para o controle de *Alphitobius diaperinus* (panzer) (coleóptera : tenebrionidae), p. 65, 2019.

ROJAS, V. M. A. **Caracterização do fungo entomopatogênico *Isaria fumosorosea* quanto à produção de conídios, efeitos da radiação ultravioleta-B, temperatura alta e persistência em formulações do tipo dispersão oleosa**. p. 99, 2015.

SÁNCHEZ-PÉREZ, L. de C. et al. Enzymes of entomopathogenic fungi, advances and insights. **Advances in Enzyme Research**, v. 2014, 2014.

SHRESTHA, G.; ENKEGAARD, A.; STEENBERG, T. Laboratory and semi-field evaluation of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) against the lettuce aphid, *Nasonovia ribisnigri* (Hemiptera: Aphididae). **Biological Control**, v. 85, p. 37-45, 2015.

SILVA, J. C. da. et al. Aplicando de cepas de fungos entomopatogênicos em solo natural para o controle de *Ceratitis capitata*. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 13., 2018, Petrolina. Anais... Petrolina: Embrapa Semiárido, 2018., 2018.

SILVA, N. I. de. et al. Use of endophytes as biocontrol agents. **Fungal Biology Reviews**, v. 33, n. 2, p. 133–148, 2019.

SINHA, K. K.; CHOUDHARY, A. Kr; KUMARI, P.. Entomopathogenic fungi. In: **Ecofriendly pest management for food security**. Academic Press, 2016. p. 475-505.

SRYGLEY, R. B. Ontogenetic changes in immunity and susceptibility to fungal infection in Mormon crickets *Anabrus simplex*. **Journal of Insect Physiology**, v. 58, n. 3, p. 342-347, 2012.

STAUDT, G. The species of *Fragaria*, their taxonomy and geographical distribuion. **Acta Hortic**, v. 265, p. 23-34, 1989.

STAUDT, G. Strawberry biogeography, genetics and systematics. In: **VI International Strawberry Symposium**, v. 842, p. 71-84, 2008.

STOCKS, S. D.; HODGES, A. European pepper moth or Southern European marsh pyralid *Duponchelia fovealis* (Zeller). EDIS, v. 2012, n. 1, 2012.

SUNG, G. H. et al. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. **Studies in mycology**, v. 57, p. 5-59, 2007.

- SVEDESE, V. M. et al. Action of entomopathogenic fungi on the larvae and adults of the fig fly *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae). **Ciência Rural**, v. 42, n. 11, p. 1916-1922, 2012.
- THOMAZONI, D.; FORMENTINI, M. A.; ALVES, L. F. A. Patogenicidade de isolados de fungos entomopatogênicos à *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, p. 126-133, 2014.
- VINCENT, J. F. V.; WEGST, U. G. K. Design and mechanical properties of insect cuticle. **Arthropod structure & development**, v. 33, n. 3, p. 187-199, 2004.
- WANG, C.; ST LEGER, R. J. The MAD1 adhesin of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and the MAD2 adhesin enables attachment to plants. **Eukaryotic cell**, v. 6, n. 5, p. 808-816, 2007.
- XIONG, Q. et al. Morphological and ultrastructural characterization of *Carposina sasakii* larvae (Lepidoptera: Carposinidae) infected by *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales: Clavicipitaceae). **Micron**, v. 44, p. 303-311, 2013.
- ZAKI, O. et al. Limiting factors of mycopesticide development. **Biological Control**, v. 144, n. April 2019, p. 104220, 2020.
- ZAWADNEAK, M. A. C.; GONÇALVES, R. B.; BISCHOFF, A. *Duponchelia fovealis* (Zeller) (Lepidoptera: Crambidae): nova peste no Brasil, p. 19, 2014.
- ZAWADNEAK, M. A. C. et al. First record of *Duponchelia fovealis* (Lepidoptera: Crambidae) in South America. **Idesia (Arica)**, v. 34, n. 3, p. 91–95, 2016.
- ZAWADNEAK, M. A. C. et al. Biological parameters of *Duponchelia fovealis* (Lepidoptera: Crambidae) reared in the laboratory on two diets. **European Journal of Entomology**, v. 114, n. 3 mL, p. 291–294, 2017.
- ZEIST, A. R.; DE RESENDE, Juliano Tadeu V. Strawberry breeding in Brazil: current momentum and perspectives. **Horticultura Brasileira**, v. 37, p. 7-16, 2019.
- ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 17, n. 6, p. 553-596, 2007.